



(Translation)

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

Date of Application : May 19, 2000

Application Number : Patent Appln. No. 2000-149106

Applicant(s) : JAPAN AS REPRESENTED BY DIRECTOR
GENERAL OF MINISTRY OF AGRICULTURE,
FORESTRY AND FISHERIES NATIONAL
INSTITUTE OF AGROBIOLOGICAL RESOURCES
: BIO-ORIENTED TECHNOLOGY RESEARCH
ADVANCEMENT INSTITUTION

Wafer
of the
Patent
Office

December 8, 2000

Kozo OIKAWA

Commissioner,
Patent Office

Seal of
Commissioner
of
the Patent
Office

Appln. Cert. No.

Appln. Cert. Pat. 2000-3102848



本 国 特 許 庁
PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application:

2000年 5月19日

出 願 番 号
Application Number:

特願2000-149106

出 願 人
Applicant (s):

農林水産省農業生物資源研究所長
生物系特定産業技術研究推進機構

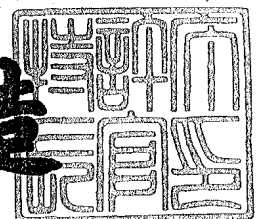
RECEIVED
MAY 29 2002
TECH CENTER 1600/2900

RECEIVED
MAY 30 2002
TECH CENTER 1600/2900

2000年12月 8日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2000-3102848

【書類名】 特許願

【整理番号】 J100412243

【特記事項】 特許法第 3 0 条第 1 項の規定の適用を受けようとする特
許出願

【提出日】 平成12年 5月19日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C12N 15/29

【発明者】

 【住所又は居所】 茨城県つくば市観音台 2 - 1 - 2 農林水産省農業生物
資源研究所内

 【氏名】 廣近 洋彦

【発明者】

 【住所又は居所】 茨城県つくば市観音台 2 - 1 - 2 農林水産省農業生物
資源研究所内

 【氏名】 山崎 宗郎

【発明者】

 【住所又は居所】 茨城県つくば市観音台 2 - 1 - 2 農林水産省農業生物
資源研究所内

 【氏名】 宮尾 安藝雄

【特許出願人】

 【持分】 001/002

 【識別番号】 591127076

 【氏名又は名称】 農林水産省農業生物資源研究所長 桂 直樹

【特許出願人】

 【持分】 001/002

 【識別番号】 000195568

 【氏名又は名称】 生物系特定産業技術研究推進機構

【代理人】

 【識別番号】 100078282

【弁理士】

【氏名又は名称】 山本 秀策

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 001878

【納付金額】 10,500円

【その他】 国以外のすべての者の持分割合 1 / 2

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 ブラシノステロイド応答に関与する新規遺伝子

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 ブラシノステロイドホルモンのシグナル伝達系を制御し得る植物遺伝子をコードするポリヌクレオチドであって、配列表の配列番号 2 の 1 位の Met から 1 0 5 7 位の Arg までのアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、または該アミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含む、ポリヌクレオチド。

【請求項 2】 イネ由来の、請求項 1 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 3】 配列表の配列番号 2 で示される、請求項 1 に記載のポリヌクレオチド。

【発明の詳細な説明】

【 0 0 0 1 】

【発明の属する技術分野】

本発明は、新規遺伝子に関する。より詳細には、植物においてブラシノステロイドホルモンに対する生理反応系における生体内情報伝達系を制御する機能を有するタンパク質をコードする新規遺伝子に関する。

【 0 0 0 2 】

【従来の技術】

トランスポゾンとは、動物、酵母、細菌および植物のゲノムに遍在することが知られる変異誘発遺伝子である。トランスポゾンは、その転移 (transposition) 機構により 2 つのクラスに分類されている。クラス II に属するトランスポゾンは、複製することなく DNA の形態で転移する。クラス II に属するトランスポゾンとして、トウモロコシ (Zea mays) の Ac/Ds、Spm/dSpm および Mu 要素 (Fedoroff, 1989, Cell 56, 181-191; Fedoroff ら, 1983, Cell 35, 235-242; Schiefelbein ら, 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, 4783-4787)、キンギョソウ (Antir

rhinum majus) のTam要素 (Bonasら、1984、EMBO J、3、1015-1019) が知られている。クラスIIに属するトランスポゾン、トランスポゾン・タグgingを利用する遺伝子単離に広く利用されている。この技術は、トランスポゾンがゲノム上で転移して、ある遺伝子中に挿入されると遺伝子の生理学的および形態学的変異が起こり、遺伝子が制御する表現型が変化することを利用する。この変化を検出することにより影響を受けた遺伝子を単離する (Bancroftら、1993、The Plant Cell、5、631-638; Colasantiら、1998、Cell、93、593-603; Grayら、1997、Cell、89、25-31; Keddieら、1998、The Plant Cell、10、877-887; Whithamら、1994、Cell、78、1101-1115)。

【0003】

クラスIに属するトランスポゾンは、レトロトランスポゾンとも呼ばれ、複製し、そしてRNA中間体を介して転移する。クラスIトランスポゾンは、最初、ショウジョウバエおよび酵母で同定され、そして特徴付けられたが、最近の研究により植物ゲノム中に遍在し、そのかなりの部分を占めていることが明らかにされている (Bennetzen、1996、Trends Microbiol.、4、347-353; Voytas、1996、Science、274、737-738)。レトロトランスポゾンの大部分は、非移動性の組み込みユニットであるようである。最近の研究は、これらのいくつかは、創傷、病原体の攻撃および細胞培養などのストレス条件下で活性化されることを示している (Grandbastien、1998、Trends in Plant Science、3、181-187; Wessler、1996、Curr. Biol.、6、959-961; Wesslerら、1995、Curr. Opin. Genet. Devel.、5、814-821。例えば、タバコではTnt1AおよびTto1 (Pouteauら、1994、Plant J.、5、535-542; Takedaら、1988、Plant Mol. Biol.、36、365-376)、およびイネではTos17 (Hirochikaら、1996、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、93、7783-7

788) について、ストレス条件下における活性化が報告されている。

【0004】

イネのレトロトランスポゾン Tos17 は、最も良く研究されている植物中のクラス I 要素である。Tos17 は、Ty1-copia 群レトロ要素の間の逆転写酵素ドメインの保存アミノ酸配列を基に作成された縮重プライマーを用いた RT-PCR 法によりクローン化された (Hirochika ら、1992、Mol. Gen. Genet.、233、209-216)。Tos17 は、4.3 kb の長さの、2 つの同じ 138 bp の LTR (長鎖末端反復) および開始メチオニン tRNA の 3' 末端に相補的な PBS (プライマー結合部位) を持つ (Hirochika ら、1996、上述)。Tos17 転写は、組織培養により強く活性化され、そして培養時間とともにそのコピー数を増加する。ゲノム研究のモデルジャポニカ品種である日本晴では、Tos17 の当初のコピー数は 2 であるが、組織培養後、再生した植物では、5~30 コピーに増加している (Hirochika ら、1996、上述)。酵母およびショウジョウバエで特徴付けられたクラス II トランスポゾンとは異なり、Tos17 は、染色体中をランダムな様式で転移し、そして安定な変異を引き起こし、そしてそれ故、イネにおける遺伝子の機能解析のための強力なツールを提供する (Hirochika、1997、Plant Mol. Biol. 35、231-240; 1999、Molecular Biology of Rice (K. Shimamoto 編集、Springer-Verlag、43-58)。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、Tos17 を用いて提供される植物新規遺伝子を提供する。

【0006】

本願発明者らは、イネにおいて、新たに転移した Tos17 コピーをもつ植物の表現型および Tos17 標的部位の隣接配列の系統的な分析を鋭意重ねた結果、Tos17 挿入による短稈イネ変異体を発見し、さらにこの変異の原因遺伝子を Tos17 を目印として単離し、本発明を完成するに至った。

【0007】

【課題を解決するための手段】

本発明は、ブラシノステロイドホルモンのシグナル伝達系を制御する遺伝子をコードするポリヌクレオチドであって、配列表の配列番号 2 の 1 位の M e t から 1 0 5 7 位の A r g までのアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、または該アミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含む、ポリヌクレオチドに関する。

【0 0 0 8】

好ましくは、このポリヌクレオチドは、イネに由来する。

【0 0 0 9】

好ましくは、このポリヌクレオチドは、配列表の配列番号 2 で示されるヌクレオチド配列を含む。

【0 0 1 0】

さらに、本発明は、生長促進、増収効果、品質向上、成熟促進、ストレス緩和作用、薬剤耐性といった、植物においてブラシノステロイドホルモンが関与する種々の効果を制御する方法に関する。

【0 0 1 1】

【発明の実施の形態】

本発明は、T o s 1 7 を用いて提供される植物新規遺伝子を包含する、植物の改良方法を提供する。

【0 0 1 2】

本発明によれば、ブラシノステロイドホルモンが関与する種々の効果を制御し得る植物遺伝子をコードするポリヌクレオチドが提供される。本願明細書で用いる用語「種々の効果を制御し得る」は、植物において、ブラシノステロイドホルモンの働きに関係する、具体的には、短稈化、草型の立性化、籾の形態異常を含む、生長促進、増収効果、品質向上、成熟促進、ストレス緩和作用、薬剤耐性といった効果を制御し得、それによってブラシノステロイドホルモン農業処理と同様の多くの農業上の有益な効果を得ることをいう。用語「植物」は、単子葉植物、双子葉植物を包含する。

【0013】

本発明のブラシノステロイドホルモンのシグナル伝達系を制御し得る植物遺伝子をコードするポリヌクレオチドは、代表的には、配列表の配列番号2の1位のMetから1057位のArgまでのアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、または該アミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含む、ポリヌクレオチドである。

【0014】

本発明のブラシノステロイドホルモンが関与する種々の効果を制御し得る植物遺伝子をコードするポリヌクレオチドは、植物においてブラシノステロイドホルモンが関与する種々の効果を制御し得る限り、配列表の配列番号2の1位のMetから1057位のArgまでのアミノ酸配列と、少なくとも80%の配列同一性、好ましくは少なくとも85%の配列同一性、より好ましくは少なくとも90%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも95%の配列同一性、最も好ましくは少なくとも99%の配列同一性を有するポリヌクレオチドを包含する。用語「配列の同一性」は、対比される2つのポリヌクレオチド配列が同一であることを意味し、対比される2つのポリヌクレオチド配列間の配列同一性の割合(%)は、対比される2つのポリヌクレオチド配列を最適に整列させた後、同一の核酸塩基(例えば、A、T、C、G、U、またはI)が両方の配列で生じて適合した位置の数を得て適合位置数とし、適合した位置の数を比較ポリヌクレオチド総数で除し、そして、この結果に100を乗じて計算される。配列同一性は、例えば、以下の配列分析用ツールを用いて算出し得る: UnixベースのGCG Wisconsin Package (Program Manual for the Wisconsin Package, Version 8, 1994年9月, Genetics Computer Group, 575 Science Drive Madison, Wisconsin, USA 53711; Rice, P. (1996) Program Manual for EGCG Package, Peter Rice, The Sanger Centre, Hinxton Hall, Cambridge, CB10 1RQ, En

gland) および the ExPASy World Wide Web 分子生物学用サーバー (Geneva University Hospital and University of Geneva, Geneva, Switzerland)。

【0015】

遺伝子が導入された細胞は、まずハイグロマイシン耐性等の薬剤耐性で選択され、ついで、常法により、植物体に再生され得る。

【0016】

本明細書中、以下で使用される名称、および以下で記載される実験室手順は、当該分野で周知で一般的に用いられる手順を使用する。標準的な技術は、組換え法、ポリヌクレオチド合成、ならびに微生物培養および形質転換（例えば、エレクトロポレーション）について使用される。この技術および手順は、一般的に、当該分野、およびこの書類を通じて提供される種々の一般的な参考文献（一般的には、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第2版（1989） Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. を参照。これらは、本明細書中で参考として援用される。

【0017】

本発明のポリヌクレオチドは、代表的には、本明細書に記載の方法に従って得られるが、本発明に開示された配列を基に、化学合成によっても得られ得る。例えば、本発明のポリヌクレオチドは、Applied Bio Systems のポリヌクレオチド合成機を用いて製造業者によって提供される仕様書に従って合成され得る。

【0018】

PCR増幅の方法は、当該分野で周知である (PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification, HA Erlich編, Freeman Press, New York, NY (1992); PCR Protocols:

A Guide to Methods and Applications
、Innis、Gelfland、Snisky、およびWhite編、Academic Press、San Diego、CA (1990) ; Mattilaら (1991) Nucleic Acids Res. 19: 4967 ; Eckert、K. A. およびKunkel、T. A. (1991) PCR Methods and Applications 1: 17 ; PCR、McPherson、Quirkies、およびTaylor、IRL Press、Oxford、これらは、本明細書中で参考として援用する。

【0019】

【実施例】

以下、本願発明を実施例を挙げて説明する。以下の実施例は、本発明の例示するものであって、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

【0020】

(実施例1) 培養によるTos17の活性化

ジャポニカ種の変種日本晴またはあきたこまちの完熟種子を出発材料に用い、先に記載のように(Hirochikara、1996、前述)カルス開始培養および細胞懸濁培養を行った。遺伝子破壊を行うために用いたTos17の活性化は、大槻(1990)の方法(イネ・プロトプラスト培養系、農林水産技術情報協会)に従って行った。要約すれば、イネの完熟種子を2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-D)(2mg/ml)を添加したMS培地(大槻(1990)、前述)で培養し(25℃、1ヶ月間)、カルス誘導を行った。得られたカルスを、2,4-Dを添加したN6液体培地(大槻(1990)、前述)で5ヶ月間培養したのち、再分化培地(大槻(1990)、前述)に移し再分化イネ(第1世代(R1)植物)を得た。

【0021】

(実施例2) Tos17の隣接配列の単離

実施例1で得られた再分化R1イネの各々を1株とし、それぞれの株から約1000個のR1種子を回収し、圃場に展開し第2世代(R2)植物を得て形態分析を行った。R2集団の各植物の表現型を観察した結果、あきたこまちの1つの

株A0369のR2集団の約1/4が図1に見られるような「短稈化、草型の立性化、粉の形態異常」様の表現型を示すことが観察された(図1)。あきたこまち再分化系統群では、野生型(図1A右および1B右)に比べて、ブラシノステロイド非感受性変異体(図1A左および1B左)では短稈化および草型の立性化、ならびに粉の形態異常も観察された。表現型と連鎖する転移Tos17の隣接配列の単離は、IPCR法(Ochmanら、Genetics Nov;120(3):621-3(1988)およびTrigliaら、Nucleic Acids Res Aug 25;(16):8186(1988))を用いて行った。A0369の全DNAをXbaIにて消化し、大容量の溶液中でライゲーション処理を行うことにより、自己閉環化した。閉環化したことにより、隣接配列がTos17の内部配列には含まれるため、Tos17の既知配列に基づく外向きのプライマー(T17TAIL3;GAGAGCATCATCGGTTACATCTTCTC、T17-1950R;TCTAGCAGTCTCAATGATGTGGCG)対にて、通常のPCR法により増幅された。

【0022】

(実施例3:アレルの探索)

実施例2で得られた配列をもとに、日本晴の再分化イネ集団より、同じ遺伝子の別の部位にTos17が挿入された系統をPCRを用いて選抜したところ、同様に短稈化、草型の立性化、粉の形態異常を呈する系統(NC6148)が選抜された。すなわち、日本晴再分化系統群でも同様に、野生型(図2A右および2B右)に比べて、ブラシノステロイド非感受性変異体(図2A左および2B左)では短稈化および草型の立性化、ならびに粉の形態異常も観察された(図2)。これら共通の変異は同じ遺伝子が破壊されたことが原因であると結論された。

【0023】

(実施例4:原因遺伝子の発現解析)

実施例2および3で得られたR2イネ(A0369およびNC6148株の自殖後代)の集団から変異を示す個体と正常個体とを識別し、それぞれからRNAを調製し、次いでノーザン解析により発現特異性を解析した。変異を示す個体と正常個体から得られたRNAを、アガロース電気泳動後、ナイロンメンブレンに

吸着させた。両変異系統のT o s 1 7挿入部位より5'側部位（ゲノミックシーケンス5775～6638および3'側部位（ゲノミックシーケンス8175～8765）の配列をPCRにて増幅して得られるDNA断片を³²P-dCTPで標識してプローブとして用いて、ノーザン解析により発現特異性を解析した（図3）。図3Aに示されるノーザン解析のオートラジオグラムに示されるように、矢印で示されるバンド（約4.3kb）は野生型では観察されたすべての器官で発現が観察されたが、変異体ではT o s 1 7の挿入によりサイズの異常な転写産物が見られ、本体の機能が失われていることが明らかとなった（図3B）。

【0024】

（実施例5：原因遺伝子の構造解析）

実施例2で得られた配列をプローブとし、cDNAライブラリおよびゲノミックライブラリから、対応するcDNAおよびゲノミッククローンを得た。これらの構造を図4、5に示した。この遺伝子は6つのエキソンおよび5つのイントロンからなり、1057アミノ酸をコードする遺伝子であること、変異体ではT o s 1 7が第4エキソンおよび第5エキソンに挿入されていることがわかった。また、モチーフ検索の結果から、核移行シグナル1（配列番号2のアミノ酸残基329～367、Robbins & Dingwallコンセンサス配列、PSORTプログラムによる検索（<http://psort.ims.u-tokyo.ac.jp/>））および核移行シグナル2（配列番号2のアミノ酸残基457～460、595～600、4アミノ酸核移行パターンシグナル、PSORTプログラムによる検索（<http://psort.ims.u-tokyo.ac.jp/>））の存在ならびにATP/GTP結合ドメイン（配列番号2のアミノ酸残基526～533、ゲノムネット（<http://www.genome.ad.jp/>）のモチーフ検索サービスによる）の存在が示唆されたことから、この遺伝子はシグナル伝達に関わる遺伝子である可能性が示唆された（図4）。

【0025】

（実施例6：ブラシノステロイド感受性の評価）

本遺伝子が全植物体で発現していること、遺伝子の破壊により多面的な影響を

及ぼすこと、シグナル伝達系に関わる因子である可能性のあることなどから、植物ホルモンのシグナル伝達系に関わる因子であると推察した。草型の立性化という特性からブラシノステロイドホルモンのシグナル伝達系ではないかと仮定し、ブラシノステロイドホルモンの一種であるブラシノライドを用い、ブラシノステロイドの応答性試験である、葉身屈曲応答性試験を行った。暗黒下で発芽させたイネ第2葉を切り取り、 1 ng/ml のブラシノステロイド溶液に48時間浸漬した。野生型の遺伝子を持つ野生型個体では葉身・葉鞘接合部で屈曲が起こり（図5AおよびBのそれぞれ向かって左側）、ブラシノライドに対する応答を示しているが、変異型固体ではほとんど屈曲せず（図5AおよびBのそれぞれ向かって右側）、本遺伝子の破壊により、ブラシノステロイドに対する応答性が失われたことを示している。以上の結果より、本遺伝子はブラシノステロイドホルモンのシグナル伝達系に関与する遺伝子であることが明らかとなった。

【0026】

上記の実施例は、本発明の種々の局面、および本発明の特定のオリゴヌクレオチドがどのように作成され、および利用されるのかを例示して記載している。本発明の範囲を制限するものではない。

【0027】

【発明の効果】

植物育種に利用可能なブラシノステロイドホルモンが関与する種々の効果を制御し得る新規ポリヌクレオチドが提供される。当該ポリヌクレオチドを植物に導入し、ブラシノステロイドホルモンが関与する種々の効果を人為的に制御することにより、生長促進、増収効果、品質向上、成熟促進、ストレス緩和作用、薬剤耐性といった効果を制御し得、それによってブラシノステロイドホルモン農薬処理と同様の多くの農業上の有益な効果を得ることが可能になると期待される。

【0028】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> National Institute of Agrobiological Resources, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries

Bio-Oriented Technology Research Advancement Institution

<120> A novel gene involved in brassinosteroid responses

<130> J100412243

<140> JP

<141> 2000-05-19

<160> 3

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 4310

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> CDS

<222> (655)..(3828)

<400> 1

ctcttctcca ctccaaatcc cttcttacc tattccctc cccccgcagc ttcttctct 60

cctgcagtac tcgccgccac caccaccgcg ccgccgccgc cggccgcgtt ccgagacca 120

ctcgatcgga atccaccgcg gcgcgcccgc gcgcctgcgt cctcttcctt ccccgggagc 180

cgaccgacca cggcgaccag tcgatctccc tctccgggcg ccaaccgcgt cttagcttca 240

tcgaatccac cgccccaccc cgcctctcct cctcctcctc cgacgacgac gactactact 300

agtcttctcc aataagcccc cctcccgcct ccccgccctg aagaagaagc agcagctagc 360

tccggggaga ggctcgacggc gcgccgggta gatcgcgccc cgccccgcct gcgtcgcggc 420

tgtcggagca aacgcaaacc cccaggttg ttctagcgtg tgcagcggct agctgattga 480

ttgtcttctg tgatatatcc agagctcgtg ttttgtgggt ttgtggttgt ggtttgtgct 540

tggattgttg atgtgcta atcgcgcggtt acaagatcac tgctggattg atattgagtt 600

gtgcctcggc tgtgctagct gtgtgttgat tctctcctcg tcgtggtgat cgat atg 657

Met

1

gag att gtt gca gta gat cag gag gga gct cgt gtt gtt ggg acg aac 705

Glu Ile Val Ala Val Asp Gln Glu Gly Ala Arg Val Val Gly Thr Asn

5

10

15

tgt atg ctt gct cgt ggt gga act ggt gct gta gcg cca gtg ttg gag 753

Cys Met Leu Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ala Val Ala Pro Val Leu Glu

20

25

30

ctg aca gcg acg cct cgt cag gat gca gcc gct gaa gct ggt gta gac 801

Leu Thr Ala Thr Pro Arg Gln Asp Ala Ala Ala Glu Ala Gly Val Asp

35

40

45

gaa ccg gca caa cac caa tgc gag cat ttc tcc ata aga ggg tat gtt 849

Glu Pro Ala Gln His Gln Cys Glu His Phe Ser Ile Arg Gly Tyr Val

50

55

60

65

gct ctt ctt cag aag aag gat cca aaa ttc tgc tct cta tct cgg att 897

Ala Leu Leu Gln Lys Lys Asp Pro Lys Phe Cys Ser Leu Ser Arg Ile

70

75

80

ttc cat gac cag aaa aaa tgt gat gaa cac aaa gct agt tca agc cca 945

Phe His Asp Gln Lys Lys Cys Asp Glu His Lys Ala Ser Ser Ser Pro

85

90

95

ttt tct gta gca aag ttt cga cga tgg gat tgc tcg aag tgc ttg gat 993

Phe Ser Val Ala Lys Phe Arg Arg Trp Asp Cys Ser Lys Cys Leu Asp

100

105

110

aag ttg aaa act tca gat aat gga aca gca cca aga act ctt ccc gca 1041

Lys Leu Lys Thr Ser Asp Asn Gly Thr Ala Pro Arg Thr Leu Pro Ala

115

120

125

aag cag aat ggc aca agt gat ggt tgc tcc atc aca ttt gtt cgg agc 1089

Lys Gln Asn Gly Thr Ser Asp Gly Cys Ser Ile Thr Phe Val Arg Ser

130

135

140

145

act ttt gtg cct gct agt gtt ggt tcc caa aaa gtg tct cct agc aca 1137

Thr Phe Val Pro Ala Ser Val Gly Ser Gln Lys Val Ser Pro Ser Thr

150

155

160

caa tca tct caa ggg aag aat gct gat aga tca act ctt cca aag agt 1185

Gln Ser Ser Gln Gly Lys Asn Ala Asp Arg Ser Thr Leu Pro Lys Ser

165

170

175

gtg caa gaa ggc aat gac tcc aaa tgc aat gcg cct tct ggc aag aat 1233

Val Gln Glu Gly Asn Asp Ser Lys Cys Asn Ala Pro Ser Gly Lys Asn

180

185

190

gga gct gct gag gcc aat act gat tca cca atg aaa gat ttg caa ggg 1281

Gly Ala Ala Glu Ala Asn Thr Asp Ser Pro Met Lys Asp Leu Gln Gly

195

200

205

cca gcc caa aat tat gat gtg gca gca aat gtc tct gag gac aac act 1329

Pro Ala Gln Asn Tyr Asp Val Ala Ala Asn Val Ser Glu Asp Asn Thr

210

215

220

225

tct gtt gat gtt ggg gct tta cct gaa gtt ccc cag att aca tgg cac 1377

Ser Val Asp Val Gly Ala Leu Pro Glu Val Pro Gln Ile Thr Trp His

230

235

240

ata gaa gta aat ggt gca gat caa cct cca tcc act cca aaa ctt tct 1425

Ile Glu Val Asn Gly Ala Asp Gln Pro Pro Ser Thr Pro Lys Leu Ser

245

250

255

gaa gtg gtc ctc aaa aga aat gaa gat gaa aat gga aaa act gaa gag 1473

Glu Val Val Leu Lys Arg Asn Glu Asp Glu Asn Gly Lys Thr Glu Glu

260	265	270	
act ctt gtt gct gag cag tgc aat ttg acc aaa gat cct aac cca atg 1521			
Thr Leu Val Ala Glu Gln Cys Asn Leu Thr Lys Asp Pro Asn Pro Met			
275	280	285	
tct gga aag gaa cgt gat cag gtt gct gag cag tgc aat ttg acc aaa 1569			
Ser Gly Lys Glu Arg Asp Gln Val Ala Glu Gln Cys Asn Leu Thr Lys			
290	295	300	305
gat ccg aaa cca gtg tct ggg cag aaa tgt gag cag atc tgc aat gag 1617			
Asp Pro Lys Pro Val Ser Gly Gln Lys Cys Glu Gln Ile Cys Asn Glu			
	310	315	320
cca tgt gaa gaa gtt gtt ctc aaa aga agc tcc aaa tct aag agg aag 1665			
Pro Cys Glu Glu Val Val Leu Lys Arg Ser Ser Lys Ser Lys Arg Lys			
	325	330	335
acg gat aag aag ttg atg aag aag cag cag cac agc aag aaa cgc act 1713			
Thr Asp Lys Lys Leu Met Lys Lys Gln Gln His Ser Lys Lys Arg Thr			
	340	345	350
gcc cag gct gat gtt tca gat gca aag ctt tgt cgg aga aag cca aaa 1761			
Ala Gln Ala Asp Val Ser Asp Ala Lys Leu Cys Arg Arg Lys Pro Lys			
	355	360	365
aag gtg cgg ctt cta tca gaa att ata aat gct aac cag gtt gag gat 1809			
Lys Val Arg Leu Leu Ser Glu Ile Ile Asn Ala Asn Gln Val Glu Asp			
370	375	380	385

tct aga agt gac gaa gtt cat cgt gaa aat gcc gct gat ccc tgt gag 1857

Ser Arg Ser Asp Glu Val His Arg Glu Asn Ala Ala Asp Pro Cys Glu

390

395

400

gat gat aga agt acc atc ccg gtc ccg atg gaa gta agc atg gat att 1905

Asp Asp Arg Ser Thr Ile Pro Val Pro Met Glu Val Ser Met Asp Ile

405

410

415

cct gtt agc aac cat aca gtg gga gaa gat ggg tta aaa tca agt aag 1953

Pro Val Ser Asn His Thr Val Gly Glu Asp Gly Leu Lys Ser Ser Lys

420

425

430

aac aag aca aaa cgc aaa tac tct gat gtt gta gat gat gga tca tca 2001

Asn Lys Thr Lys Arg Lys Tyr Ser Asp Val Val Asp Asp Gly Ser Ser

435

440

445

ctt atg aac tgg ctg aat gga aaa aag aaa aga act gga agt gtg cat 2049

Leu Met Asn Trp Leu Asn Gly Lys Lys Lys Arg Thr Gly Ser Val His

450

455

460

465

cac aca gtt gct cat cca gct ggg aat ttg agc aac aaa aaa gtg aca 2097

His Thr Val Ala His Pro Ala Gly Asn Leu Ser Asn Lys Lys Val Thr

470

475

480

ccc act gcg agt act cag cat gat gat gag aat gat act gaa aat ggt 2145

Pro Thr Ala Ser Thr Gln His Asp Asp Glu Asn Asp Thr Glu Asn Gly

485

490

495

ctt gac aca aat atg cat aag aca gat gtc tgt cag cat gta tca gaa 2193

Leu Asp Thr Asn Met His Lys Thr Asp Val Cys Gln His Val Ser Glu

500

505

510

atc tcc aca cag agg tgc tca tca aag ggg aaa aca gcg ggt ttg agt 2241

Ile Ser Thr Gln Arg Cys Ser Ser Lys Gly Lys Thr Ala Gly Leu Ser

515

520

525

aag ggg aaa aca cat tca gct gct agt acc aaa tat ggt ggt gaa agc 2289

Lys Gly Lys Thr His Ser Ala Ala Ser Thr Lys Tyr Gly Gly Glu Ser

530

535

540

545

acc aga aat ggt cag aac ata cat gta ctc agc gca gaa gat caa tgc 2337

Thr Arg Asn Gly Gln Asn Ile His Val Leu Ser Ala Glu Asp Gln Cys

550

555

560

cag atg gaa acc gaa aac tct gtt ctg agt cac tcg gca aag gtt tct 2385

Gln Met Glu Thr Glu Asn Ser Val Leu Ser His Ser Ala Lys Val Ser

565

570

575

cca gct gag cat gat atc caa att atg tct gac ctt cat gag cag agt 2433

Pro Ala Glu His Asp Ile Gln Ile Met Ser Asp Leu His Glu Gln Ser

580

585

590

cta ccc aag aag aaa aag aag caa aaa ctt gaa gtg act cgt gaa aaa 2481

Leu Pro Lys Lys Lys Lys Lys Gln Lys Leu Glu Val Thr Arg Glu Lys

595

600

605

cag acc atg ata gat gac atc ccc atg gat att gtt gaa ctg cta gct 2529

Gln Thr Met Ile Asp Asp Ile Pro Met Asp Ile Val Glu Leu Leu Ala

610 615 620 625

aaa aac cag cat gag agg cag ctt atg act gag act gat tgt tct gac 2577

Lys Asn Gln His Glu Arg Gln Leu Met Thr Glu Thr Asp Cys Ser Asp

630 635 640

atc aac cgt att caa tcc aag aca act gct gat gat gat tgt gta ata 2625

Ile Asn Arg Ile Gln Ser Lys Thr Thr Ala Asp Asp Asp Cys Val Ile

645 650 655

gta gct gcc aag gat ggt tca gat tat gca tca agt gtg ttt gac act 2673

Val Ala Ala Lys Asp Gly Ser Asp Tyr Ala Ser Ser Val Phe Asp Thr

660 665 670

aat tcc caa cag aag tcc ttg gca tcc caa agt aca cag aag gag tta 2721

Asn Ser Gln Gln Lys Ser Leu Ala Ser Gln Ser Thr Gln Lys Glu Leu

675 680 685

cag ggt cat ttg gca ttg acc aca caa gag tct cca cat cct cag aac 2769

Gln Gly His Leu Ala Leu Thr Thr Gln Glu Ser Pro His Pro Gln Asn

690 695 700 705

ttt cag tct act cag gaa cag cag aca cat ttg cgg atg gaa gaa atg 2817

Phe Gln Ser Thr Gln Glu Gln Gln Thr His Leu Arg Met Glu Glu Met

710 715 720

gtc act att gct gca agc tca cca cta ttt tca cat cat gat gat cag 2865

Val Thr Ile Ala Ala Ser Ser Pro Leu Phe Ser His His Asp Asp Gln

725	730	735	
tat att gct gaa gca cca act gaa cat tgg ggc cgt aag gac gca aag			2913
Tyr Ile Ala Glu Ala Pro Thr Glu His Trp Gly Arg Lys Asp Ala Lys			
740	745	750	
aag cta acg tgg gag caa ttt aag gcc act aca aga aat tct cca gca			2961
Lys Leu Thr Trp Glu Gln Phe Lys Ala Thr Thr Arg Asn Ser Pro Ala			
755	760	765	
gca aca tgt ggt gct caa ttt aga cct ggt atc caa gca gtt gac ttg			3009
Ala Thr Cys Gly Ala Gln Phe Arg Pro Gly Ile Gln Ala Val Asp Leu			
770	775	780	785
act tct act cat gtc atg gga tct tcc agc aat tat gca tct cgc caa			3057
Thr Ser Thr His Val Met Gly Ser Ser Ser Asn Tyr Ala Ser Arg Gln			
790	795	800	
cca gta att gcg cca ctg gac cgc tat gct gaa aga gcg gtt aac cag			3105
Pro Val Ile Ala Pro Leu Asp Arg Tyr Ala Glu Arg Ala Val Asn Gln			
805	810	815	
gtc cat gca aga aat ttt cca agc aca ata gca acc atg gaa gcg agt			3153
Val His Ala Arg Asn Phe Pro Ser Thr Ile Ala Thr Met Glu Ala Ser			
820	825	830	
aag tta tgt gat cgg aga aat gct gga caa gta gtc ttg tat cct aaa			3201
Lys Leu Cys Asp Arg Arg Asn Ala Gly Gln Val Val Leu Tyr Pro Lys			
835	840	845	

gaa tcc atg cct gcg acg cat ctt ctg aga atg atg gat cca tca aca 3249
 Glu Ser Met Pro Ala Thr His Leu Leu Arg Met Met Asp Pro Ser Thr
 850 855 860 865

tta gca agc ttc ccc aac tat gga act tct agc agg aac cag atg gag 3297
 Leu Ala Ser Phe Pro Asn Tyr Gly Thr Ser Ser Arg Asn Gln Met Glu
 870 875 880

tct caa ctt cat aat tct cag tat gca cat aat cag tac aaa gga tca 3345
 Ser Gln Leu His Asn Ser Gln Tyr Ala His Asn Gln Tyr Lys Gly Ser
 885 890 895

acc agc aca tca tat ggc agt aac ctg aat gga aag att cca ttg aca 3393
 Thr Ser Thr Ser Tyr Gly Ser Asn Leu Asn Gly Lys Ile Pro Leu Thr
 900 905 910

ttc gaa gac tta tca cgg cat cag ctg cat gat ctg cac aga cct tta 3441
 Phe Glu Asp Leu Ser Arg His Gln Leu His Asp Leu His Arg Pro Leu
 915 920 925

cgc cca cat cct aga gtt ggt gtg ctt ggc tcc ttg ctg cag aag gaa 3489
 Arg Pro His Pro Arg Val Gly Val Leu Gly Ser Leu Leu Gln Lys Glu
 930 935 940 945

att gca aac tgg tcg gag aac tgt ggc aca caa tct ggt tat aag tta 3537
 Ile Ala Asn Trp Ser Glu Asn Cys Gly Thr Gln Ser Gly Tyr Lys Leu
 950 955 960

gga gtg tca aca gga ata aca tcg cat cag atg aac aga aag gaa cat 3585

Gly Val Ser Thr Gly Ile Thr Ser His Gln Met Asn Arg Lys Glu His

965

970

975

ttt gaa gcc ctg aat tct gga atg ttt tca gca aaa tgg aat gca ttg 3633

Phe Glu Ala Leu Asn Ser Gly Met Phe Ser Ala Lys Trp Asn Ala Leu

980

985

990

cag ttg ggt tct gtt agc tcc agt gca gat ttt tta tca gcg agg aac 3681

Gln Leu Gly Ser Val Ser Ser Ser Ala Asp Phe Leu Ser Ala Arg Asn

995

1000

1005

agc ata gct caa tct tgg acc aga ggc aag ggt aaa atg gtt cat ccc 3729

Ser Ile Ala Gln Ser Trp Thr Arg Gly Lys Gly Lys Met Val His Pro

1010

1015

1020

1025

ttg gat cgg ttt gtg aga cag gat atc tgt ata act aac aag aac cca 3777

Leu Asp Arg Phe Val Arg Gln Asp Ile Cys Ile Thr Asn Lys Asn Pro

1030

1035

1040

gct gat ttt act aca atc agt aac gat aac gag tat atg gat tac cgc 3825

Ala Asp Phe Thr Thr Ile Ser Asn Asp Asn Glu Tyr Met Asp Tyr Arg

1045

1050

1055

tga agcagaaagt ggtgtgcata attcctgaac atttacaatc atacatttca 3878

tctttatggc gccaaatagt cataactgtaa gaggagggt ttgctggatc tgctgtaagg 3938

cttcttgtaa gttgtggatg cccattttc tggatgggaa cctgccagac agtgaacaag 3998
 ggctttgcaa ggtgcagcat ccggtttttg ttttgccagt ccaagaaacg tcctcctggt 4058
 actttgtagt tgtactcata ctagtgcgct tgtttgtaca aggagaaatg tgtaaccttg 4118
 ttgaaaaaat gtctcccca ttttgtaatt accataagga ggtttatagt gttgtgagct 4178
 gtgtgtgact gacggcgaga aatggttttg tcggtgttaa ggttgaaacg actagctctc 4238
 gttatcaatg tgttgtaaac ttctagattg atgtgttacc ttactcttga agtcaacacc 4298
 ggagaattta ca 4310

<210> 2

<211> 1057

<212> PRT

<213> Oryza sativa

<400> 2

Met	Glu	Ile	Val	Ala	Val	Asp	Gln	Glu	Gly	Ala	Arg	Val	Val	Gly	Thr
1			5						10					15	
Asn	Cys	Met	Leu	Ala	Arg	Gly	Gly	Thr	Gly	Ala	Val	Ala	Pro	Val	Leu
			20					25					30		
Glu	Leu	Thr	Ala	Thr	Pro	Arg	Gln	Asp	Ala	Ala	Ala	Glu	Ala	Gly	Val
			35					40					45		
Asp	Glu	Pro	Ala	Gln	His	Gln	Cys	Glu	His	Phe	Ser	Ile	Arg	Gly	Tyr
			50				55						60		

Val	Ala	Leu	Leu	Gln	Lys	Lys	Asp	Pro	Lys	Phe	Cys	Ser	Leu	Ser	Arg
65					70					75					80
Ile	Phe	His	Asp	Gln	Lys	Lys	Cys	Asp	Glu	His	Lys	Ala	Ser	Ser	Ser
				85					90						95
Pro	Phe	Ser	Val	Ala	Lys	Phe	Arg	Arg	Trp	Asp	Cys	Ser	Lys	Cys	Leu
			100					105					110		
Asp	Lys	Leu	Lys	Thr	Ser	Asp	Asn	Gly	Thr	Ala	Pro	Arg	Thr	Leu	Pro
	115						120					125			
Ala	Lys	Gln	Asn	Gly	Thr	Ser	Asp	Gly	Cys	Ser	Ile	Thr	Phe	Val	Arg
	130					135						140			
Ser	Thr	Phe	Val	Pro	Ala	Ser	Val	Gly	Ser	Gln	Lys	Val	Ser	Pro	Ser
145			150						155					160	
Thr	Gln	Ser	Ser	Gln	Gly	Lys	Asn	Ala	Asp	Arg	Ser	Thr	Leu	Pro	Lys
		165						170					175		
Ser	Val	Gln	Glu	Gly	Asn	Asp	Ser	Lys	Cys	Asn	Ala	Pro	Ser	Gly	Lys
		180					185						190		
Asn	Gly	Ala	Ala	Glu	Ala	Asn	Thr	Asp	Ser	Pro	Met	Lys	Asp	Leu	Gln
		195					200						205		
Gly	Pro	Ala	Gln	Asn	Tyr	Asp	Val	Ala	Ala	Asn	Val	Ser	Glu	Asp	Asn
	210						215						220		
Thr	Ser	Val	Asp	Val	Gly	Ala	Leu	Pro	Glu	Val	Pro	Gln	Ile	Thr	Trp
225				230						235				240	
His	Ile	Glu	Val	Asn	Gly	Ala	Asp	Gln	Pro	Pro	Ser	Thr	Pro	Lys	Leu
			245						250					255	
Ser	Glu	Val	Val	Leu	Lys	Arg	Asn	Glu	Asp	Glu	Asn	Gly	Lys	Thr	Glu
		260						265					270		
Glu	Thr	Leu	Val	Ala	Glu	Gln	Cys	Asn	Leu	Thr	Lys	Asp	Pro	Asn	Pro
		275						280					285		
Met	Ser	Gly	Lys	Glu	Arg	Asp	Gln	Val	Ala	Glu	Gln	Cys	Asn	Leu	Thr

290	295	300
Lys Asp Pro Lys Pro Val Ser Gly Gln Lys Cys Glu Gln Ile Cys Asn		
305	310	315
Glu Pro Cys Glu Glu Val Val Leu Lys Arg Ser Ser Lys Ser Lys Arg		320
325	330	335
Lys Thr Asp Lys Lys Leu Met Lys Lys Gln Gln His Ser Lys Lys Arg		
340	345	350
Thr Ala Gln Ala Asp Val Ser Asp Ala Lys Leu Cys Arg Arg Lys Pro		
355	360	365
Lys Lys Val Arg Leu Leu Ser Glu Ile Ile Asn Ala Asn Gln Val Glu		
370	375	380
Asp Ser Arg Ser Asp Glu Val His Arg Glu Asn Ala Ala Asp Pro Cys		
385	390	395
Glu Asp Asp Arg Ser Thr Ile Pro Val Pro Met Glu Val Ser Met Asp		400
405	410	415
Ile Pro Val Ser Asn His Thr Val Gly Glu Asp Gly Leu Lys Ser Ser		
420	425	430
Lys Asn Lys Thr Lys Arg Lys Tyr Ser Asp Val Val Asp Asp Gly Ser		
435	440	445
Ser Leu Met Asn Trp Leu Asn Gly Lys Lys Lys Arg Thr Gly Ser Val		
450	455	460
His His Thr Val Ala His Pro Ala Gly Asn Leu Ser Asn Lys Lys Val		
465	470	475
Thr Pro Thr Ala Ser Thr Gln His Asp Asp Glu Asn Asp Thr Glu Asn		480
485	490	495
Gly Leu Asp Thr Asn Met His Lys Thr Asp Val Cys Gln His Val Ser		
500	505	510
Glu Ile Ser Thr Gln Arg Cys Ser Ser Lys Gly Lys Thr Ala Gly Leu		
515	520	525

Ser Lys Gly Lys Thr His Ser Ala Ala Ser Thr Lys Tyr Gly Gly Glu
 530 535 540
 Ser Thr Arg Asn Gly Gln Asn Ile His Val Leu Ser Ala Glu Asp Gln
 545 550 555 560
 Cys Gln Met Glu Thr Glu Asn Ser Val Leu Ser His Ser Ala Lys Val
 565 570 575
 Ser Pro Ala Glu His Asp Ile Gln Ile Met Ser Asp Leu His Glu Gln
 580 585 590
 Ser Leu Pro Lys Lys Lys Lys Lys Gln Lys Leu Glu Val Thr Arg Glu
 595 600 605
 Lys Gln Thr Met Ile Asp Asp Ile Pro Met Asp Ile Val Glu Leu Leu
 610 615 620
 Ala Lys Asn Gln His Glu Arg Gln Leu Met Thr Glu Thr Asp Cys Ser
 625 630 635 640
 Asp Ile Asn Arg Ile Gln Ser Lys Thr Thr Ala Asp Asp Asp Cys Val
 645 650 655
 Ile Val Ala Ala Lys Asp Gly Ser Asp Tyr Ala Ser Ser Val Phe Asp
 660 665 670
 Thr Asn Ser Gln Gln Lys Ser Leu Ala Ser Gln Ser Thr Gln Lys Glu
 675 680 685
 Leu Gln Gly His Leu Ala Leu Thr Thr Gln Glu Ser Pro His Pro Gln
 690 695 700
 Asn Phe Gln Ser Thr Gln Glu Gln Gln Thr His Leu Arg Met Glu Glu
 705 710 715 720
 Met Val Thr Ile Ala Ala Ser Ser Pro Leu Phe Ser His His Asp Asp
 725 730 735
 Gln Tyr Ile Ala Glu Ala Pro Thr Glu His Trp Gly Arg Lys Asp Ala
 740 745 750
 Lys Lys Leu Thr Trp Glu Gln Phe Lys Ala Thr Thr Arg Asn Ser Pro

755	760	765
Ala Ala Thr Cys Gly Ala Gln Phe Arg Pro Gly Ile Gln Ala Val Asp		
770	775	780
Leu Thr Ser Thr His Val Met Gly Ser Ser Ser Asn Tyr Ala Ser Arg		
785	790	795
Gln Pro Val Ile Ala Pro Leu Asp Arg Tyr Ala Glu Arg Ala Val Asn		
805	810	815
Gln Val His Ala Arg Asn Phe Pro Ser Thr Ile Ala Thr Met Glu Ala		
820	825	830
Ser Lys Leu Cys Asp Arg Arg Asn Ala Gly Gln Val Val Leu Tyr Pro		
835	840	845
Lys Glu Ser Met Pro Ala Thr His Leu Leu Arg Met Met Asp Pro Ser		
850	855	860
Thr Leu Ala Ser Phe Pro Asn Tyr Gly Thr Ser Ser Arg Asn Gln Met		
865	870	875
Glu Ser Gln Leu His Asn Ser Gln Tyr Ala His Asn Gln Tyr Lys Gly		
885	890	895
Ser Thr Ser Thr Ser Tyr Gly Ser Asn Leu Asn Gly Lys Ile Pro Leu		
900	905	910
Thr Phe Glu Asp Leu Ser Arg His Gln Leu His Asp Leu His Arg Pro		
915	920	925
Leu Arg Pro His Pro Arg Val Gly Val Leu Gly Ser Leu Leu Gln Lys		
930	935	940
Glu Ile Ala Asn Trp Ser Glu Asn Cys Gly Thr Gln Ser Gly Tyr Lys		
945	950	955
Leu Gly Val Ser Thr Gly Ile Thr Ser His Gln Met Asn Arg Lys Glu		
965	970	975
His Phe Glu Ala Leu Asn Ser Gly Met Phe Ser Ala Lys Trp Asn Ala		
980	985	990

Leu Gln Leu Gly Ser Val Ser Ser Ser Ala Asp Phe Leu Ser Ala Arg
 995 1000 1005
 Asn Ser Ile Ala Gln Ser Trp Thr Arg Gly Lys Gly Lys Met Val His
 1010 1015 1020
 Pro Leu Asp Arg Phe Val Arg Gln Asp Ile Cys Ile Thr Asn Lys Asn
 1025 1030 1035 1040
 Pro Ala Asp Phe Thr Thr Ile Ser Asn Asp Asn Glu Tyr Met Asp Tyr
 1045 1050 1055
 Arg

<210> 3

<211> 9455

<212> DNA

<213> *Oryza sativa*

<400> 3

gatctatcgt tgattggatt tcgctgggct agctaggttag acaagggttc aaaatgtgac 60
 gaacattatt gagctaataa ataacgagaa accaacttgg tatataggtc aatttcaaaa 120
 gaaacaagct gacaaaattc gtccaatttc actagttttt gtcagtaatt gaatggcaat 180
 catggttatc gacaaaaccg cttaggagtg ctatttggtg atggaatggt ttataaaact 240
 ttggaccgga gtagcagtac aatggcttgt ctgaacaggc taggtagcat agtaggtcct 300
 ttgccttgg ttgcaactgt ctgtcggctt ataggggaat ctattggctt aatggaaggg 360
 aaaatagtgt gactagcatc atcgatttgc ttgctatcat gtttgagcat cattgacatg 420
 tgggtgtcga tctaggagac tatgaatcta gcgaatcctc actagtatgc acatgcacaa 480
 cgacatcatg cagctatatg tacaacaatg taggaatggt agctctactc ggattggtgg 540
 ccgcattcct acattgctag aaaaacacaa acacacacac acacacacac aaacaaacat 600
 aggacgctgc aacacctctt ccctggctac cactatcgcc aaatgccaag catggttgtg 660

ttgacctccc tccttagctg cactgtgtc cacttcaaaa tccataacca cgacatcttc 720
 ccttcttcta caattgttac tactgttctt gaagagggtc ttgtectacc gacttactaa 780
 agaccaacca ttggtcagca gagcatctcg agacttctat accaaagtaa cattgagagg 840
 tcaatggcat gtaggacat cactccgttt gcattgacca atcagagatg agtctgaaca 900
 atttcaaccc gtaaaaacgg tccacaattt gattcatcta ttggtttgct gtctgccccat 960
 ggccctgcat cttgattgtt tatgatcttt cttagttatc tcttgagatt taatctacct 1020
 aattgtgtca ttttaatcct ttgatttate ttgattggat tcggtctact ttggtttcac 1080
 catcttagcc ccgatatgat cttggtagcc cttttttcct cgcactaatc attttcgatt 1140
 ctcgactcca atctaagttc ccatggtaga tttagggtcaa taagtgaata acaatttccc 1200
 ttacaattta atcccccttt gagtaatgac cttcgtactt cctcaaacga tggtttcatg 1260
 gataaagatt tgataattgt ggcgacagga tggggcatgg cttatgaaga aaatgagctc 1320
 attggattgg tattttctcc tccatgctcc tattggtaaa aatattggtt tagttggata 1380
 gtcaggtag aacgggattt aaaaatgtga ctacaactag tcgtttatcg cggttgacaca 1440
 tgggtgtcaa cgggtgactg cctgtgttgg catcaataat ttagaattag aggtgtcggc 1500
 ttaatgctgg tagattgtgg atatctccc atacacgtag gcgtcgatgg cttcatgtgc 1560
 gtacgtgccg tcctgcatag gatgggtagc aacggaggaa ggctggcttt gttgacttgt 1620
 agcctcacta aggccaactg cctattggca atgaagtgtt tttgtttta ggagaaacaa 1680
 acttttgagc taggcaacat cggtatgtag caggccattc tctagggtcaa tggcacttag 1740
 agtcggagca tgccggccgt gcctattaca acatggttat catgtgcatg tggcaagggc 1800
 acacattaca cgtccccatt gtctaacatc gtagactatg agtttgatag aagaaaccca 1860
 actgaaaggc cagtgtcaaa tccattctac ctgtgtcgag aactaagggt aagcgtttta 1920
 tatagattag gacactcaca tacatatgct gtgcatgggg tggtagagac cattatgtac 1980
 cactagtac atgtgtctac ctagttatat gatctattga ttgaaaattc gactgagata 2040
 agaataacta tgtgtgtatat ttaacttggc acaacatata gtggttgga catcacatta 2100
 gacatgcctt ggcaggaaga aagccgctgt agtttaattt aacatgttaa acaccacata 2160
 gtgagtaac aatctaggct taaaaaaaaat aaagacaaca caaacaacac cagagaacac 2220
 ataaacacag agggggcaat caactctgtt gtttgatcta tacttcgtca gagtttgata 2280
 tatctctgct ctctgcattt taaaactact tatattacaa agcactgtat gttatatagt 2340
 aatactttgt agatcacgag tataaacac agataggtag aatttttttt actcctacgt 2400

atttacgtat taaccggtac aatattatatt agcatgcatg tacgcgtgat attagagtgg 2460
 agtatactac ctacgcatgc tcgggcagta tcggtacctc tatacctacc tatatacaca 2520
 taccaggtag agtacagcgg caggtagagt acacagtagt atatggagct tattttatca 2580
 tttttattac tggagataga agaagaagag aaaggagaga gagagagaaa gagtgggaagg 2640
 gaaaggcgtg cggggccac acacgcagca gggcagcgt gcggaggtga ggtgagggca 2700
 ggggcagggg cagggcggac tggccaacgc caactccaac tccaactccc gtacaaataa 2760
 aatatacaat cttttctttt tctctctct cttttccctt ccattccacc cccctctctc 2820
 tctctctctc actccaaatc cttcttacc ctattccctt cccccgcag cttctcttcc 2880
 tctgcagta ctgcgccca ccaccaccgc gccgccgccg ccggccgcgt tccgagacc 2940
 actcgatcgg aatccaccgc ggccgcccg cgcgcctgcg tctcttctt tccccgggag 3000
 ccgaccgacc acggcgacca gtcgatctcc ctctccgggc gccaacgcg tcttagcttc 3060
 atcgaatcca ccgccccacc ccgcctctcc tctctctct ccgacgacga cgactactac 3120
 tagtcttctc caataagccc cctcccgtt cccccgcct gaagaagaag cagcagctag 3180
 ctccggggag aggtcgacgg cgcgccgggt agatcgccc ccgccccgcc tgcgtcgcg 3240
 ctgctggagc aaacgcaaac ccccaggta atcaacgaac ttttctccg ccgcaagaac 3300
 agctcccgcg gggggtttgg tttgaccga tttcttccc cctccccca aatcgacca 3360
 tccaatttcg cctcgattta ctccgattt cccactttt tttcttctt ttcgggttgg 3420
 ggggttgcgg ttttggggga ggagaggggt tcagctcatc cgaagcccca cgtaggtcc 3480
 gcccccttcc cagctgtgcc cctctctcgg gcctcgagct cctcgctcc atgggaacca 3540
 aagcccttat atttcatgtc gcggaagaaa aaaaaatccc gtcttttgcg gggatcctcg 3600
 cggctacgta cgagccctag ttaccgcgcg gattttagtt acggcggtt atgcggcccc 3660
 tccctctagg ttttagatct acccatctct ctctctctct ctctctctct ctctgtgcat 3720
 gcatgtgtct atcttagcta tacctgtatt atttgggaagg ttaattatgg ttgtgtatat 3780
 gtggcgcggt aattaattag ttaattcgc accccctctc tctttgttta tctaggtttt 3840
 gggggaattt atttcttgc ataattttgc ccgtcgaat ttctggtgct cttatatcc 3900
 atgagctgat tgaagtggat atatattgtg cgtgcgtgcg tgctattgct acatcggtt 3960
 gacttcttct tgcctactac ttcattaatt tgtttcttct ggtttctgtt tcaggttgtt 4020
 ctagcgtgtg cagcggctag ctgattgatt gtcttctgtg atatatccag agctcgtgtt 4080
 ttgtggtttg tggtttgtg tttgtgcttg gattgttgat gtgctaattc gcggcggtac 4140

aagatcactg ctggattgat attgagttgt gcctcggctg tgctagctgt gtgttgattc 4200
tctcctcgtc gtggtgatcg atatggagat tgttgacagta gatcaggagg gagctcgtgt 4260
tgttgggacg aactgtatgc ttgctcgtgg tggaactggt gctgtagcgc cagtgttgga 4320
gctgacagcg acgcctcgtc aggatgcagc cgctgaagct ggtgtagacg aaccggcaca 4380
acaccaatgc gagcatttct ccataaggta atcattttct gtatttccaa ttccagtatc 4440
gcgttgtgga tgaataatga atcggcatgt catgccatat tgcactgttt gatggaagag 4500
tatgattgat cgtggttttt gcacagtttg ctgttgggac ttatatggtc atctgttttg 4560
tacgatcgta tacactgggt cgacatgctt atgactttgg ttcgatttag gaagtcaata 4620
catccactac tagctctata tctagccatg tgaactcatt tatgccatag cacagctagc 4680
aggctagcag caaaaaatat atataatatt tgcatatatg ttggtgtttc atgtatcttt 4740
atactctacg tacatccatt aatatcttca atgtatgaat ctgagcacat gattgtgagt 4800
gctacacata tgcattgtctg tatgtgtgtt cattaggtgt ttgatcatat ttgtttgtgt 4860
tggggtgcgc atgcatttat tcaggccatg ctgtaggctg tagctagata tttgtgtttg 4920
tatattatit ctgttgaaca agctgattac taatgaaatt aaccttttg gggtagactc 4980
atatattggg ccttacattt ttgtaatcat ttttcctttg tgctgagggt cagcataaaa 5040
cttttttctc ataagcatgt ttacatccta ggagattctt agaactgatg gtttcttcat 5100
atttgcatta tgtttgattt gatagtccat tattatttta agccttttca attgttttaga 5160
gattctagag atgatatata tcaaccatag acttgtcagc ttttggttta atactttcta 5220
gaactaatta gattattatt tttgtagttt atcctgtcat gctatttgta ttatctttga 5280
attcaaactg caatacttag attatcttga aggtcctctt tttctggact gtacaagcta 5340
tgtatgaaat gcctacctcc cagcatcctt tagattatgt agggcctttt ctgagtttat 5400
cagttgtata ttgactgaag cacgcaatgt gctatatata tgtgccatgc atctttataa 5460
tgataatctt atttttcttg taccagaggg tatgttgctc ttcttcagaa gaaggatcca 5520
aaattctgct ctctatctcg gattttccat gaccagaaaa aatgtgatga acacaaagct 5580
agttcaagcc cattttctgt agcaaagttt cgacgatggg attgctcgaa gtgcttgat 5640
aagttgaaaa cttcagataa tggaacagca ccaagaactc tccccgaaa gcagaatggc 5700
acaagtgatg gttgtcccat cacatttggt cggagcactt ttgtgcctgc tagtgttggt 5760
tccccaaaag tgtctcctag cacacaatca tctcaaggga agaattgctga tagatcaact 5820
cttccaaaga gtgtgcaaga aggcaatgac tccaaatgca atgcgccttc tggcaagaat 5880

ggagctgctg aggccaatac tgattcacca atgaaaggta tggtagatgt agagcctttc 5940
 aaattcctaa gtaggatttt atttaaggta tagaataaac taatgtttgt gtgattttct 6000
 cagatttgca agggccagcc caaaattatg atgtggcagc aaatgtctct gaggacaaca 6060
 cttctgttga tgttggggct ttacctgaag tccccagat tacatggcac atagaagtaa 6120
 atggtgcaga tcaacctcca tccactccaa aactttctga agtggtcctc aaaagaaatg 6180
 aagatgaaaa tggaaaaact gaagagactc ttgttgctga gcagtgcaat ttgaccaaag 6240
 atcctaacc aatgtctgga aaggaacgtg atcaggttgc tgagcagtgc aatttgacca 6300
 aagatccgaa accagtgtct gggcagaaat gtgagcagat ctgcaatgag ccatgtgaag 6360
 aagttgttct caaaagaagc tccaaatcta agaggaagac ggataagaag ttgatgaaga 6420
 agcagcagca cagcaagaaa cgcactgccc aggtgatgtt ttcagatgca aagctttgtc 6480
 ggagaaagcc aaaaaagggtg cggcttctat cagaaattat aaatgctaac caggttgagg 6540
 attctagaag tgacgaagt catcgtgaaa atgccgtga tccctgtgag gatgatagaa 6600
 gtaccatccc ggtcccgatg gaagtaagca tggatattcc tgtagcaac catacagtgg 6660
 gagaagatgg gttaaaatca agtaagaaca agacaaaacg caaatactct gatgtttag 6720
 atgatggatc atcacttatg aactggctga atggaaaaa gaaaagaact ggaagtgtgc 6780
 atcacacagt tgctcatcca gctgggaatt tgagcaacaa aaaagtgaca cccactgcga 6840
 gtactcagca tgatgatgag aatgatactg aaaatggctc tgacacaaat atgcataaga 6900
 cagatgtctg tcagcatgta tcagaaatct ccacacagag gtgctcatca aaggggaaaa 6960
 cagcgggttt gagtaagggg aaaacacatt cagctgctag taccaaatat ggtggtgaaa 7020
 gcaccagaaa tggtcagaac atacatgtac tcagcgcaga agatcaatgc cagatggaaa 7080
 ccgaaaactc tgttctgagt cactcggcaa aggtacgaat tttgtgaatc atgaggaatt 7140
 tttgcttttt aaattgactg aatcaacatt tatctgtatg aaggaataat attggtgcat 7200
 aacaatgta agaaatatgc atacaatgtt tatttatatg ctttccactg ttcttcttta 7260
 cttatgtttt gatactcttt ttgtgtgtgc gtgcatgtgt gcatgtgtgt gtgtgtgtgt 7320
 gtgtgcgcgc gtgtgtgtgc acgtgcgtgg cgcaatattc ttttttagac tcatattata 7380
 gtgattgtaa tggactgaca ttttctcat ttctcatctc aggtttctcc agctgagcat 7440
 gatatccaaa ttatgtctga ccttcatgag cagagtctac ccaagaagaa aaagaagcaa 7500
 aaactgaag tgactcgtga aaaacagacc atgatagatg acatcccat ggatattgtt 7560
 gaactgctag ctaaaaacca gcatgagagg cagcttatga ctgagactga ttgttctgac 7620

atcaaccgta ttcaatccaa gacaactgct gatgatgatt gtgtaatagt agctgccaaag 7680
 gatggttcag attatgcac aagtgtgttt gacactaatt cccaacagaa gtccttggca 7740
 tcccaaagta cacagaagga gttacagggt catttggcat tgaccacaca agagtctcca 7800
 catcctcaga actttcagtc tactcaggaa cagcagacac atttgcggat ggaagaaatg 7860
 gtcactattg ctgcaagctc accactatit tcacatcatg atgatcagta tattgctgaa 7920
 gcaccaactg aacattgggg ccgtaaggac gcaaagaagc taacgtggga gcaatttaag 7980
 gccactacaa gaaattctcc agcagcaaca tgtggtgctc aatttagacc tggatatcaa 8040
 gcagttgact tgacttctac tcatgtcatg ggatcttcca gcaattatgc atctcgccaa 8100
 ccagtaattg cgccactgga ccgctatgct gaaagagcgg ttaaccaggt ccatgcaaga 8160
 aattttccaa gcacaatagc aaccatggaa gcgagtaagt tatgtgatcg gagaaatgct 8220
 ggacaagtag tcttgtatcc taaagaatcc atgcctgcga cgcattctct gagaatgatg 8280
 gatccatcaa cattagcaag ctccccaac tatggaactt ctagcaggaa ccagatggag 8340
 tctcaacttc ataattctca gtatgcacat aatcagtaca aaggatcaac cagcacatca 8400
 tatggcagta acctgaatgg aaagattcca ttgacattcg aagacttate acggcatcag 8460
 ctgcatgac tgcacagacc tttagccca catcctagag ttggtgtgct tggctccttg 8520
 ctgcagaagg aaattgcaaa ctggtcggag aactgtggca cacaatctgg ttataagtta 8580
 ggagtgtcaa caggaataac atcgcacag atgaacagaa aggaacattt tgaagccctg 8640
 aattctggaa tgttttcagc aaaatggaat gcattgcagt tgggttctgt tagctccagt 8700
 gcagattttt tatcagcgag gaacagcata gctcaatctt ggaccagagg caagggtaaa 8760
 atggttcate ccttggatcg gtttgtgaga caggatatct gtataactaa caagaacca 8820
 gctgatttta ctacaatcag taacgataac gagtatatgg attaccgctg aagcagaaag 8880
 tgggtgtcat aattcctgaa catttacaat catacatttc atctttatgg cgccaaatag 8940
 tcatactgta agaggagggc tttgctggat ctgctgtaag gtaagttgaa ctttttcttc 9000
 ttgcaagttt atcagtttaa gaaaaagaa tgattactta tgtagcaag gatggttctt 9060
 gcaggcttct tgtaagttgt ggatgcccc ttttctggat gggaacctgc cagacagtga 9120
 acaagggtt tgcaaggtgc agcatccgt ttttgttttg ccagtccaag aaacgtcctc 9180
 ctgttacttt gtagttgtac tcatactagt gcgcttgttt gtacaaggag aaatgtgtaa 9240
 ccttgttgaa aaaatgtctc cccattttg taattacat aaggaggtt atagtgttgt 9300
 gagctgtgtg tgactgacgg cgagaaatgg ttttgtcggg gttaaggtt aaacgactag 9360

ctctcgttat caatgtgttg taaacttcta gattgatgtg ttaccttact cttgaagtca 9420
acaccggaga atttacagta cttttttgcc gtgcc 9455

【図面の簡単な説明】

【図1】

あきたこまち再分化系統群から見いだされたTos17挿入ブラシノステロイド非感受性変異体、および野生型イネの植物体を示す写真である。向かって左は、Tos17挿入ブラシノステロイド非感受性変異体、そして右は、野生型の植物体である。(A) 短稈化および草型の立性化への影響、(B) 籾の形態異常への影響を示す。

【図2】

日本晴再分化系統群から見いだされたTos17挿入ブラシノステロイド非感受性変異体、および野生型イネの植物体を示す写真である。向かって左は、Tos17挿入ブラシノステロイド非感受性変異体、そして右は、野生型の植物体である。(A) 短稈化および草型の立性化への影響、(B) 籾の形態異常への影響を示す。

【図3A】

ブラシノステロイド非感受性変異体（あきたこまち）の葉から抽出したRNAと、野生型イネ（日本晴）の種々の器官から抽出したRNAのノーザン分析のオートラジオグラムを示す図である。

【図3B】

ブラシノステロイド非感受性変異体から抽出したRNAと野生型イネから抽出したRNAのノーザン分析のオートラジオグラムを示す図である。左は5'プロンプを使用したときの野生型および変異型の比較、右は3'プロンプを使用したときの野生型および変異型の比較を示す。

【図4】

ブラシノステロイドホルモンにより誘導される生理反応系を制御する新規イネ遺伝子のアミノ酸配列と、その中に見られる特徴的な配列を示す。核移行シグナルおよびATP/GTP結合モチーフが見られる。

【図 5 A】

あきたこまちから得られた変異系統（A 0 3 6 9）を用いた、ブラシノステロイド葉身屈曲実験の結果の比較を示す。向かって左側は野生型、向かって右側は変異型の結果を示す。

【図 5 B】

日本晴から得られた変異系統（N C 6 1 4 8）を用いた、ブラシノステロイド葉身屈曲実験の結果の比較を示す。向かって左側は野生型、向かって右側は変異型の結果を示す。

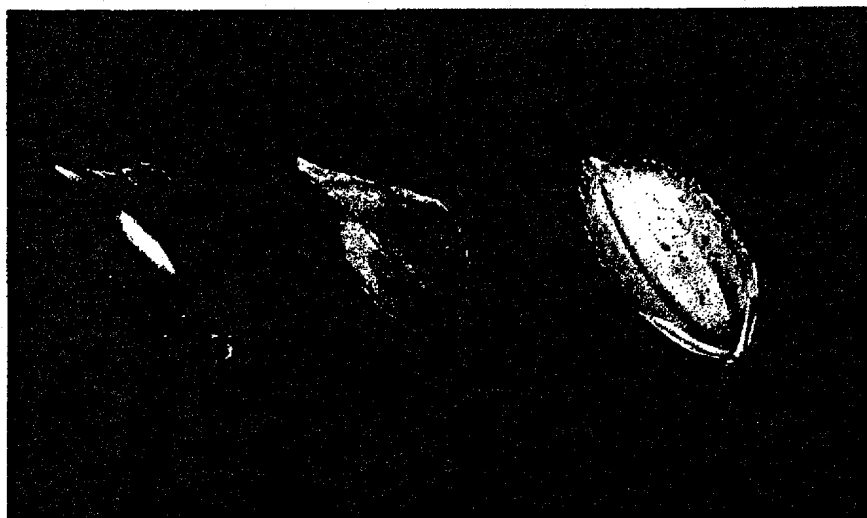
【書類名】 図面

【図1】

A 変異型 野生型
 (A0369 -/-) (品種あきたこまち)



B 変異型 野生型
 (A0369 -/-) (品種あきたこまち)



【図2】

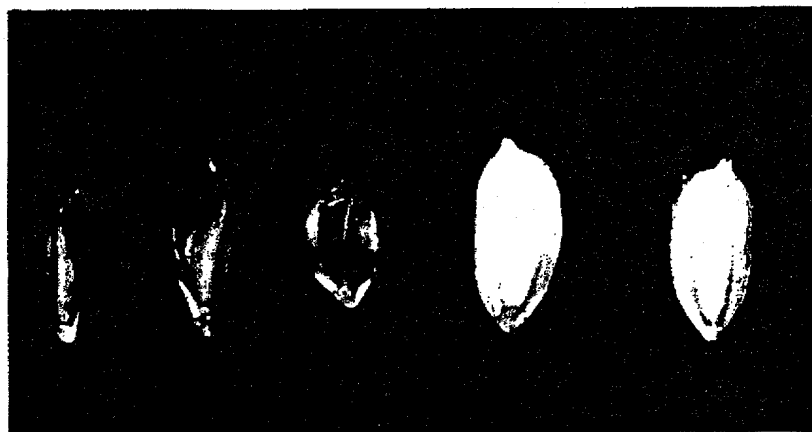
A 変異型 野生型



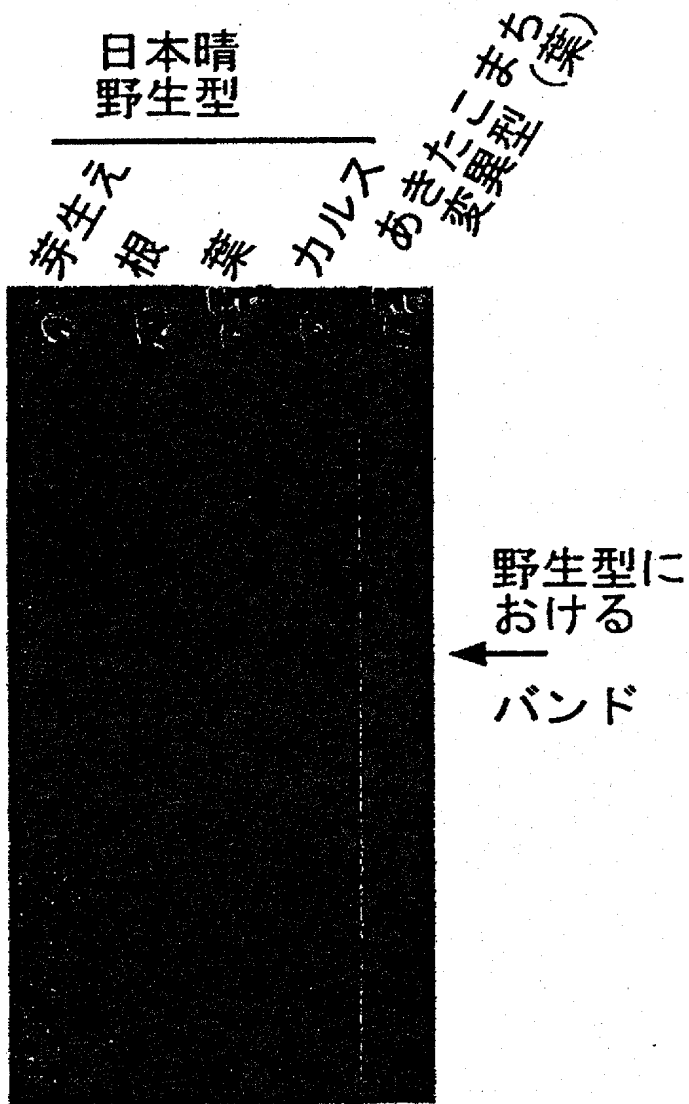
B

変異型

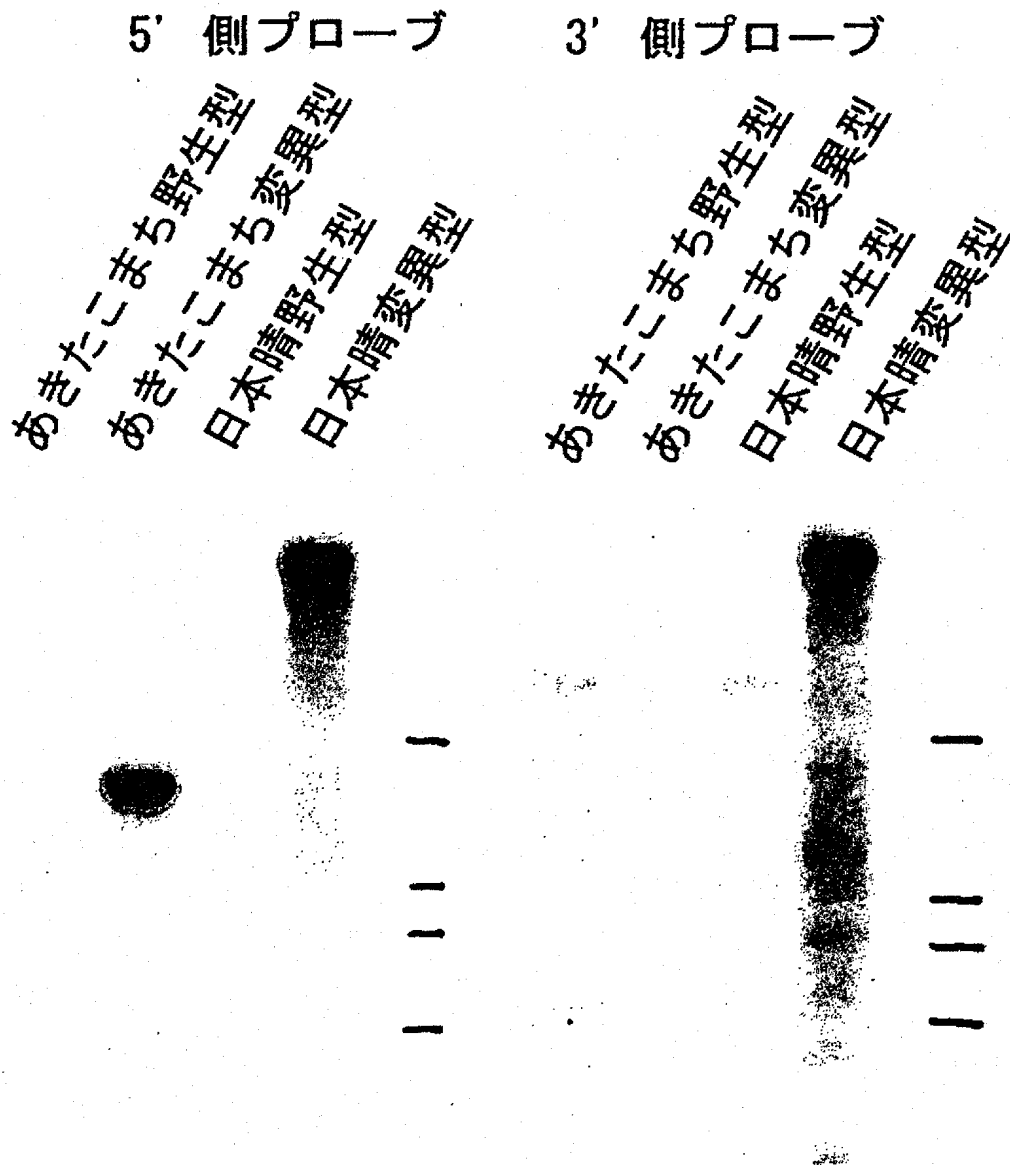
野生型



【図3A】



【図3B】

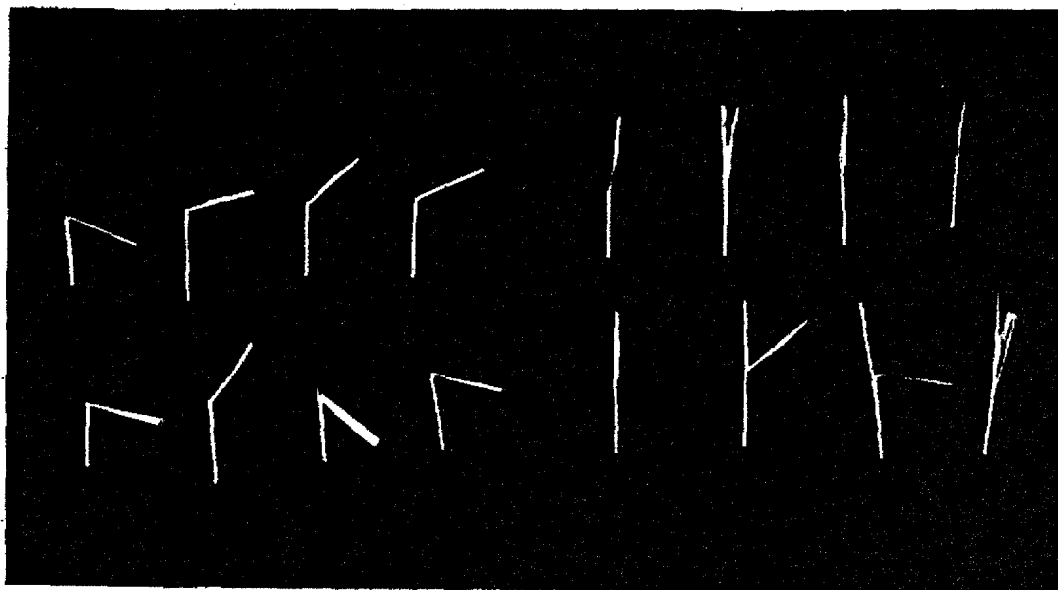


【図 4】

MEIVAVDQEG ARVVGTCNML ARGGTGAVAP VLELTATPRQ DAAAEAGVDE 50
 PAQHQCCEHFS IRGYVALLQK KDPKFCSLSR IFHDQKKCDE HKASSSPFSV 100
 AKFRRWDCSK CLDKLKTSDN GTAPRTLPAK QNGTSDGCSI TFVRSTFVPA 150
 SVGSQKVSPS TQSSQGNAD RSTLPKSVQE GNDSKCNAPS GKNGAAEANT 200
 DSPMKDLQGP AQNYDVAANV SEDNTSVDVG ALPEVPQITW HIEVNGADQP 250
 PSTPKLSEVV LKRNEDENGK TEETLVAEQC NLTKDPNPMG GKERDQVAEQ 300 核移行シグナル(1)
 CNLTKDPKPV SGQKCEQICN EPCEEVVKR **SSKSKRKTKD KLMKKQCHSK** 350
KRTAQADVSD AKLCRRKPKK **VRLLEIINA** NOVEDSRSD E VHRENAADPC 400 核移行シグナル(2)
 EDDRSTIPVP MEVSMIPVS NHTVGEDGLK SSKNKTARKY **SDVVDDGSSL** 450
 MNWLNKKKR **TGSVHETVAM** PAGNLSNKKV TPTASTQHDD ENDTENGLDT 500
 NMHKTDVCQH VSEISTORCS SKGKT**AGLSK** **GKTHSAASTK** YGGESTRNGQ 550
 NIHVLSAEDQ CQMETENSVL SHSAKVSPAE HDIQIMSDLH **EQSLPKKKKK** 600
 QKLEVTREKQ TMIDDIPMDI VELLAKNQHE RQLMTEFOCS DINRIQSKTT 650
 ADDDCVIVAA KDGSDYASSV FDTNSQQKSL ASQSTQKELQ GHLALTQES 700
 PHPQNFQSTQ EQQTHLRMEE MVTIAASSPL FSHHDDQYIA EAPTEHWGRK 750
 DAKKLTWEQF KATTRNSPAA TCGAQFRPGI QAVDLTSTHV MGSSSNYASR 800
 QPVIAPLDRY AERAVNQVHA RNFPSTIATM EASKLCDRRN AGQVVLYPKE 850 ATP/GTP結合モチーフ
 SMPATHLLRM MDPSTLASFP NYGTSSRNQM ESQIHNSQYA HNQYKGSTST 900
 SYGSNLNGKI PLTFEDLSRH QLHDLHRPLR PHPRVGVLSG LLQKEIANWS 950
 ENCQTQSGYK LGVSTGITSH QMNRKEHFEA LNSGMFSAKW NALQLGSVSS 1000
 SADFLSARNS IAQSWTRGKG KMVHPLDRFV RQDICITNKN PADFTTISND 1050
 NEYMDYR 1057

【図5A】

あきたこまちから得られた変異系統(A0369)

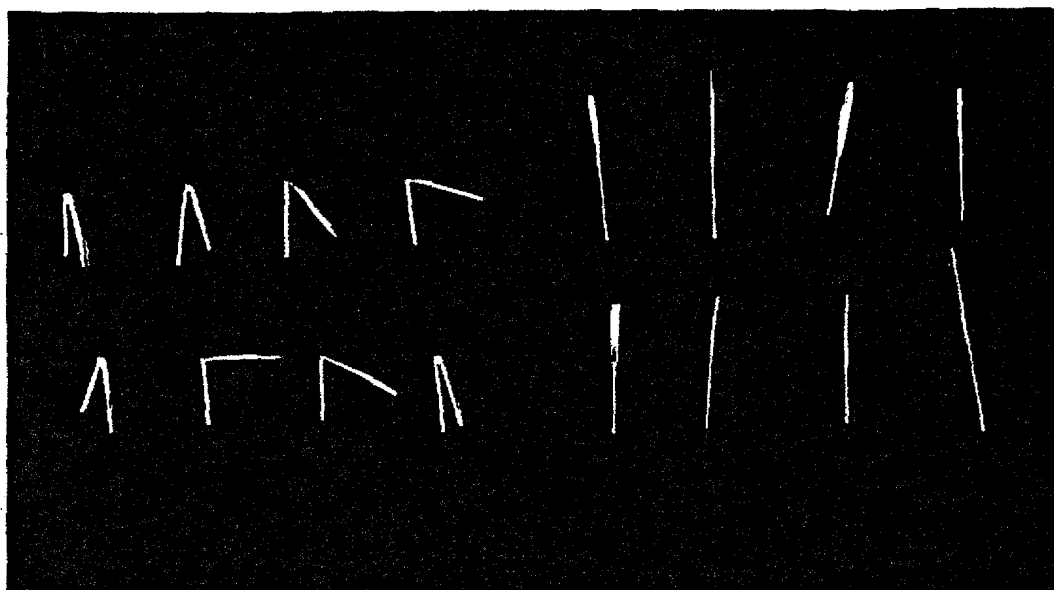


野生型

変異型

【図5B】

日本晴から得られた変異系統(NC6148)



野生型

変異型

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 T o s 1 7 を用いて提供される植物新規遺伝子を提供する。

【解決手段】 ブラシノステロイドホルモンのシグナル伝達系を制御し得る植物遺伝子をコードするポリヌクレオチドであって、配列表の配列番号 3 の 1 位の M e t から 1 0 5 7 位の A r g までのアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、または該アミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含む、ポリヌクレオチド。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2000-149106
受付番号	50000622931
書類名	特許願
担当官	松野 邦昭 2209
作成日	平成12年 7月28日

<認定情報・付加情報>

【手数料の表示】

【納付金額】 21,000円

【特許出願人】

【識別番号】 591127076

【住所又は居所】 茨城県つくば市観音台2丁目1-2

【氏名又は名称】 農林水産省農業生物資源研究所長

【特許出願人】

【識別番号】 000195568

【住所又は居所】 埼玉県大宮市日進町1丁目40番地2

【氏名又は名称】 生物系特定産業技術研究推進機構

【代理人】

申請人

【識別番号】 100078282

【住所又は居所】 大阪府中央区城見1丁目2番27号 クリスタル
タワー15階

【氏名又は名称】 山本 秀策

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [591127076]

1. 変更年月日 1991年 5月16日
[変更理由] 新規登録
住 所 茨城県つくば市観音台2丁目1の2
氏 名 農林水産省農業生物資源研究所長

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000195568]

1. 変更年月日 1990年 8月21日

[変更理由] 新規登録

住 所 埼玉県大宮市日進町1丁目40番地2

氏 名 生物系特定産業技術研究推進機構